

# EUROPEAN PATENT OFFICE

## Patent Abstracts of Japan

12

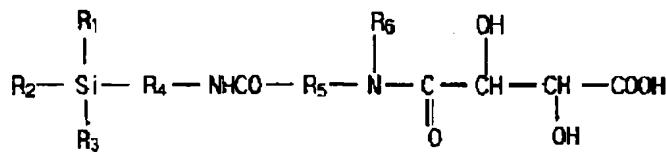
PUBLICATION NUMBER : 06298672  
PUBLICATION DATE : 25-10-94

APPLICATION DATE : 16-04-93  
APPLICATION NUMBER : 05089956

APPLICANT : SUMIKA BUNSEKI CENTER:KK;

INVENTOR : KISU NAOKO;

INT.CL. : C07B 57/00 G01N 30/48



TITLE : CHIRALITY-DISCRIMINATION AGENT  
AND SEPARATING AGENT FOR  
CHROMATOGRAPHY

ABSTRACT : PURPOSE: To provide a chirality-discrimination agent having a structure containing an organosilane compound grafted to an inorganic carrier having specific group on the surface, containing a ligand exchanging function part as well as hydrogen-bond interacting part and useful for the separation of optical isomer mixture.

CONSTITUTION: The objective discrimination agent has a structure containing an organosilane compound expressed by formula (R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> and R<sub>3</sub> are alkyl, alkoxy, etc.; at least one of them is alkoxy or halogen; R<sub>4</sub> is lower alkylene; R<sub>5</sub> is residue produced by removing one amino group and one carboxyl group from an optically active amino acid or its D isomer; R<sub>6</sub> is H, lower alkyl, etc.; the tartaric acid part and the amino acid or imino acid part have optically active forms) (e.g. aminopropyltriethoxsilane bonded with L-tartaric acid-valine) and grafted to an inorganic carrier (preferably a silicon-containing carrier such as silica gel) having hydroxyl group on the surface. A filler for chromatography can be prepared by using a proper grafting method.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-298672

(43)公開日 平成6年(1994)10月25日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

C 07 B 57/00  
G 01 N 30/48

識別記号

府内整理番号

310

7419-4H

W 8310-2J

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数 2 ○1. (全 11 頁)

(21)出願番号

特願平5-89056

(22)出願日

平成5年(1993)4月16日

(71)出願人

3900000686

株式会社住化分析センター

大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番  
135号

(72)発明者

大井 尚文

大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番  
135号 株式会社住化分析センター内

(72)発明者

北原 一

大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番  
135号 株式会社住化分析センター内

(74)代理人

弁理士 青山 葵 (外1名)

最終頁に続く

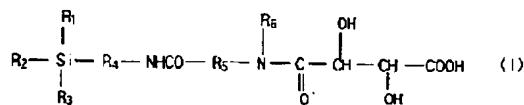
(54)【発明の名称】 キラリティ識別剤およびクロマトグラフィー用分離剤

(57)【要約】

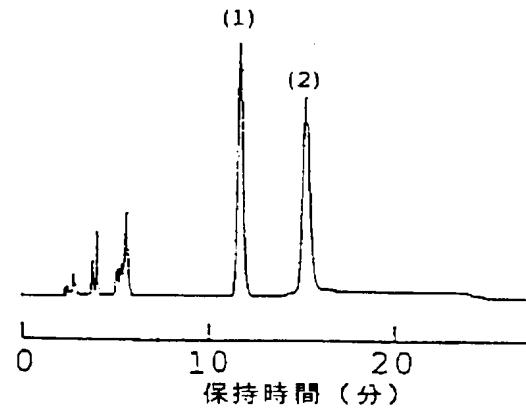
【目的】 光学異性体混合物をクロマトグラフィーを用いて分離するためのキラリティ識別剤および充填剤を提供する。

【構成】

【化1】

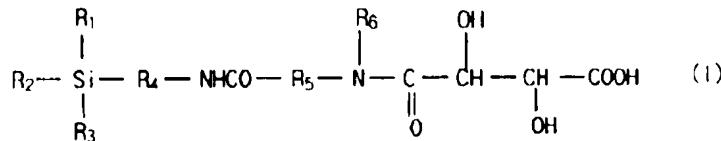


で示されるオルガノシラン化合物、例えばL-酒石酸-バリンが結合したアミノプロピルトリエトキシシランが表面にヒドロキシ基をもつ無機担体にグラフトされた形のキラリティ識別剤。図1において、1はN-3,5-ジニトロベンゾイル-(S)-1-フェニルエチルアミンのピーク、2はN-3,5-ジニトロベンゾイル-(R)-1-フェニルエチルアミンのピークを示す。



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】 一般式:



[式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は、同一または異なって、アルキル基、アルコキシ基、ヒドロキシ基またはハロゲン原子を表し、少なくともその1つはアルコキシ基またはハロゲン原子である。R<sub>4</sub>は低級アルキレン基、R<sub>5</sub>は光学活性アミノ酸またはそのD異性体から1個のアミノ基と1個のカルボキシ基を除いた残基、R<sub>6</sub>は、水素または低級アルキル基であるか、またはR<sub>6</sub>はR<sub>5</sub>と一緒になってイミノ酸またはそのD異性体から1個のイミノ基と1個のカルボキシ基を除いた残基(但し、上記R<sub>5</sub>において、残っているOH、NH、NH<sub>2</sub>は基-Y-Z-で置換されていてもよい。ここで-Y-は-CO-または-COOH-、Zは低級アルキル、單環もしくは2環アリール基または單環もしくは2環アラルキル基である)。なお酒石酸部分およびアミノ酸もしくはイミノ酸部分は光学活性形である。]で示されるオルガノシラン化合物が、表面にヒドロキシ基をもつ無機担体にグラフトされた形の構造を有する、キラリティ識別剤。

【請求項2】 請求項1記載の化合物からなる、クロマトグラフィー用充填剤。

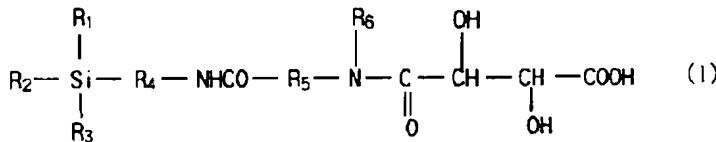
## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 この発明は上記一般式で示される酒石酸モノアミド化合物の用途に関するものである。上記用途には、アミノ酸、オキシ酸等の光学異性体を直接分離し得る配位子交換機能部とアミンやアミノ酸、カルボン酸等の光学異性体の誘導体を分離し得る水素結合相互作用部位を合わせ持つキラリティ識別剤およびクロマトグラフィー充填剤としての用途が含まれる。

## 【0002】

【従来の技術および発明が解決しようとする課題】 酒石※



[式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は、同一または異なって、アルキル基、アルコキシ基、ヒドロキシ基またはハロゲン原子を表し、少なくともその1つはアルコキシ基またはハロゲン原子である。R<sub>4</sub>は低級アルキレン基、R<sub>5</sub>は光学活性アミノ酸またはそのD異性体から1個のアミノ基と1個のカルボキシ基を除いた残基、R<sub>6</sub>は、水素または低級アルキル基であるか、またはR<sub>6</sub>はR<sub>5</sub>と一緒になってイミノ酸またはそのD異性体から1個のイミノ基

※酒石酸を利用した液体クロマトグラフィーによる光学分割法としては、酒石酸のモノ-n-オクチルアミド [(1)ジャーナル・オブ・リキッド・クロマトグラフィー(J. Liq. Chromatogr.)第9卷第551頁(1986)] またはジ-イソプロピルアミド誘導体 [(2)第46回分析科学討論会講演要旨集第53頁(1985年)] を液相分離剤として用いる方法が知られているが、これらは分離剤を移動相に使用するため溶離液から分離剤を内分離することが必要なため、煩雑である。

【0003】 分離剤として(R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>)-酒石酸-モノ-イソプロピルアミド(3)、(R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>)-酒石酸-モノ-1-(α-ナフチル)エチルアミド [(4)日本分析化学会第34年会講演要旨集第310頁(1985年)] および(R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>)-酒石酸-モノ-イソプロピルアミド [(5)第48回分析化学討論会講演要旨集第13頁(1987年)] をシリカゲルに共有結合させて固定相とするものもあるが、いずれも配位子交換型でないため光学分割能が低い。そのほか、(R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>)酒石酸をシリカゲルに共有結合させて固定相とする方法があり [(6)フレゼニウス・ツァイトシリフト・フェル・アナリティシェ・ヘミー(Fresenius Z. Anal. Chem.)第320卷第51-54頁]、これは正相系でのキラル識別に有効な水素結合相互作用機能を有するアミノ酸アミド部位を持たないため正相系における光学分割能が極めて乏しいという欠点を有する。この発明は、上記のような欠点をもたない分離剤を提供しようとするものである。

## 【0004】

## 【課題を解決するための手段】

## 一般式:

## 【化1】

## 【化2】

と1個のカルボキシ基を除いた残基(但し、上記R<sub>5</sub>において、残っているOH、NH、NH<sub>2</sub>は基-Y-Z-で置換されていてもよい。ここで-Y-は-CO-または-COOH-、Zは低級アルキル、單環もしくは2環アリール基または單環もしくは2環アラルキル基である)。なお酒石酸部分およびアミノ酸もしくはイミノ酸部分は光学活性形である。]で示されるオルガノシラン化合物が、表面にヒドロキシ基をもつ無機担体にグラフトされた形の構造を有する、キラリティ識別剤。

トされた形の構造を有する、キラリティ識別剤およびクロマトグラフィー用充填剤を提供するものである。

【0005】上記の一般式(I)において、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>4</sub>のアルキル基としては、炭素原子数1-20のものが好ましく、1-12のものがさらに好ましく、1-6のものが最も好ましい。好適なものは低級アルキル基であり、これには炭素原子数1-6のものが含まれる。アルキル基は直鎖または分枝鎖の何れでもよい。代表的なアルキル基の例は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、t-ブチル、ベンチル、ヘキシル等である。R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は同一でも異なってもよい。アルコキシ基としては、上記のようなアルキル基が酸素原子と結合して生ずる基が含まれる。好適なものは低級アルコキシ基である。ハロゲン原子としては、塩素、臭素、ヨウ素等が含まれる。

【0006】上記の一般式(I)において、R<sub>4</sub>の低級アルキレン基としては、炭素原子数1-6の直鎖または分枝鎖の基、例えばメチレン、エチレン、トリメチレン、1-メチルエチレン、2-メチルトリメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、ヘキサメチレン等が含まれる。

【0007】R<sub>6</sub>の低級アルキル基としては、炭素原子数1-6のものが最も好ましい。代表的な低級アルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ベンチル、ヘキシル等が含まれる。

【0008】単環または2環アリール基としては、ベンゼン核を1個または2個有する基、例えばフェニル、トリル、キシリル、クメリル、ナフチルまたはメチルナフチルが含まれる。単環もしくは2環アラルキル基としては、同様にベンジル、フェネチル、ナフチルメチル、1-ナフチルエチル等が含まれる。これらはニトロ基で置換されていてもよい。単環もしくは2環アリール基または単環もしくは2環アラルキル基の環上にニトロ基が存在する場合、これが通常1-5個、好ましくは1-3個、例えば1個または2個が置換可能な任意の位置に結合し得る。具体的には、例えば3,5-ジニトロフェニル、3-ニトロベンジル等が含まれる。

【0009】R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>に不斉炭素が含まれていてもよい。アミノ酸としては、アスパラギン、アスパラギン酸、アミノ酪酸、アラニン、β-アラニン、アルギニン、イソロイシン、オルニチン、グルタミン、グルタミン酸、セリン、チロシン、トリプトファン、トレオニン、ノルロイシン、バリン、ヒスチジン、フェニルグリシン、フェニルアラニン、メチオニン、リジン、ロイシン等が含まれ、イミノ酸としては、プロリン、ヒドロキシプロリン、ヒスチジン等が含まれる。これらの多くは天然に存在するものおよびその同族体である。これらは通常α炭素原子に結合したカルボキシ基およびアミノ(イミノ)基から結合手を出しているが、ω炭素原子に結合した基から出している場合もある(例:リジン)。

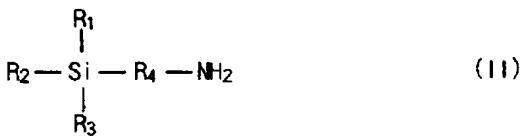
なお、酒石酸部分は光学活性形、すなわち(R, R)-酒石酸【d-または、-または(R\*, R\*) (天然形) 酒石酸】形、および(S, S)酒石酸【l-または-または(S\*, S\*) 酒石酸】形のいずれか、またはそのいずれかが優勢な混合物である。また、アミノ酸もしくはイミノ酸部分は光学活性形、すなわちlまたはD形である。

【0010】本発明において、表面にヒドロキシ基を持つ無機担体としては、例えばシリカゲル、多孔性ガラス等のけい素含有担体が好ましく、担体の形状は球状、破碎状等の何れの形状でも差し支えないが、高収率のクロマトグラフ用カラムを得るために、できるだけ粒径の揃った微細な粒子が好ましい。「グラフトされた形の構造」とは、結果として2つの部分のグラフト生成物として定義された構造をもっている限り、実際にそのものを得た製造法が1段階グラフト化であるか多段階グラフト化であるか、および多段階の場合の反応順序を問わず包含させる趣旨である。なお、グラフトに際し、式Iの化合物の基R<sub>1</sub>～R<sub>3</sub>の一部または全部(通常1～2個)が担体のヒドロキシ基と反応してエーテル型結合-O-S-を形成する。

【0011】上記の式(I)で示されるクロマトグラフィー用充填剤を調製するに際しては種々のグラフト法が採用できるが、このようなグラフト法としては例えば以下のようない方法が挙げられる。表面にヒドロキシ基を有する無機担体に、アミノアルキルシランを反応させて、無機担体の表面にアミノアルキルシリル残基を導入し、これに光学活性なアミノ酸もしくはイミノ酸および酒石酸(官能基は適宜保護してよい)を反応させ、脱水縮合させる方法。

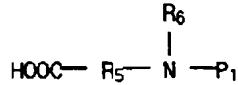
【0012】具体的には、表面にヒドロキシ基を有する無機担体に、一般式(II)

【化3】



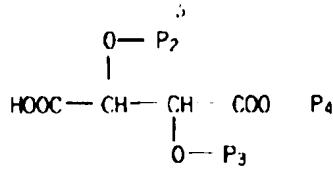
[式中、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>、R<sub>3</sub>およびR<sub>4</sub>は前述と同じ意味を有する。]で示されるアミノアルキルシランを反応させて、無機担体の表面にアミノアルキルシリル残基を導入し、次いでこれに一般式

【化4】



で示されるカルボン酸またはそのカルボキシ基における反応性誘導体および一般式

【化5】



で示されるカルボン酸またはそのカルボキシ基における反応性誘導体を順次反応させ、脱水縮合させることにより目的とする充填剤が得られる。上式中、 $\text{P}_1$ 、 $\text{P}_2$ 、 $\text{P}_3$ および $\text{P}_4$ は、アミノ基、ヒドロキシ基またはカルボキシ基の保護基としてペプチド化学で常用される保護基である。このような保護基は、その脱離法と共に「新実験化学講座」第14巻に記載されている。

【0013】具体的には、「アミノ保護基」は、例えば「新実験化学講座」第14巻第2535-2544頁に記載されており、例えば、アシル型のものとして、ホルミル( $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{OH}$ で脱離)、アセチル(酸またはアルカリで脱離)等の低級アルカノイル基、2-クロロブロピオニル(酸またはアルカリで脱離)等のハロ低級アルカノイル基、ベンゾイル(酸またはアルカリで脱離)等のアリール低級アルカノイル基、ウレタン型のものとして、メトキシカルボニル、エトキシカルボニル、第3級ブキシカルボニル( $\text{HBr}$ または $\text{HCl}/\text{AcOH}$ で脱離)等の低級アルコキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{H}_1$ または $\text{HBr}$ または $\text{HCl}/\text{AcOH}$ で脱離)、2-( $p$ -ビフェニル)イソプロポキシカルボニル( $\text{AcOH}/\text{HCOOH}$ 、トリフルオロ酢酸等で脱離)等のアリール低級アルキルオキシカルボニル基、アラルキル型のものとして、ベンジル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{Na}/\text{NH}_3$ で脱離)、トリチル( $\text{H}_2/\text{Pd}$ で脱離)等のアリール低級アルキル基、およびアゾメチニ型のものとして、ベンジリデン( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{HCl}$ で脱離)等のアリール低級アルキリデン基が挙げられる。

【0014】「ヒドロキシ保護基」は、例えば「新実験化学講座」第14巻第2497-2516頁に記載されており、メチル(酸化後、加水分解で脱離)、3級ブチル( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ で脱離)等の低級アルキル基、ベンジル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{NH}_3/\text{Na}$ で脱離)、トリチル(酢酸で脱離)等のアリール低級アルキル基、トリメチルシリル( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ で脱離)、3級ブチルメチルシリル(酢酸で脱離)等のトリ低級アルキルシリル基、ベンジルオキシメチル( $\text{NH}_3/\text{Na}$ で脱離)等のアリール低級アルコキシ低級アルキル基、エトキシカルボニル( $\text{KOH}/\text{CH}_3\text{OH}$ で脱離)等の低級アルコキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ で脱離)等のアリール低級アルコキシカルボニル基、アセチル(酸または塩基で脱離)、ホルミル( $\text{KHCOS}_2/\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{OH}$ で脱離)等の低級アルカノイル基、硝酸( $\text{Na}_2\text{S}$ で脱離)、スルホン酸( $\text{Na}/\text{Hg}/\text{CH}_3\text{O}$

$\text{H}_2\text{O}$ で脱離)等の酸残基、メチレンアセタール( $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}/(\text{CO}_2\text{CO}_2)$ 、 $\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$ で脱離)、エチリデンアセタール( $\text{CH}_2\text{COOH}$ で脱離)等の低級アルキリデンアセタール基、ベンジリデンアセタール(酸で脱離)等のアリールアセタール基等が挙げられる。

【0015】「カルボキシ保護基」は、例えば「新実験化学講座」第14巻第2535-2544頁に記載されており、例えばメチル(酸またはアルカリで脱離)、エチル(同前)、第3級ブチル( $\text{HCl}/\text{CH}_3\text{Cl}, \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}, \text{TsOH}/\text{AcOH}$ 等で脱離)等の低級アルキル基、 $2, 2, 2$ -トリクロロエチル( $\text{Zn}/\text{AcOH}, \text{HClO}_4$ 等で脱離)等のハロ低級アルキル基、メチルチオエチル( $\text{CH}_3\text{I}$ ついでアルカリ処理で脱離)等の低級アルキルチオ低級アルキル基、メトキシメチル(酸で脱離)等の低級アルコキシ低級アルキル基、トリルエチル( $\text{NaOH}/\text{ジオキサン}$ で脱離)等のアリールスルホニル低級アルキル基、 $p$ -ニトロフェニルチオエチル(スルホン酸化後アルカリで脱離)等の置換されていてもよいアリールチオ低級アルキル基、ベンジル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{Na}/\text{NH}_3, \text{NaOH}/\text{ジオキサン}, \text{HBr}/\text{AcOH}$ 等で脱離)、 $p$ -メトキシベンジル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}, \text{HClO}_4$ 等で脱離)、 $2, 4, 6$ -トリメトキシベンジル( $\text{HBr}/\text{AcOH}$ で脱離)、ベンタメチルベンジル( $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ で脱離)、 $p$ -ニトロベンジル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{NaOH}/\text{AcOH}$ で脱離)、ベンズヒドリル( $\text{H}_2/\text{Pd}, \text{NaOH}/\text{AcOH}$ で脱離)、トリチル( $\text{NaOH}, \text{HCl}/\text{CH}_3\text{OH}$ で脱離)、アントラニルメチル( $\text{HBr}/\text{AcOH}, \text{NaOH}, \text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ で脱離)等の置換されていてもよいアリール低級アルキル基、ヒドロキサム酸( $\text{HIO}_4$ で脱離)等が挙げられる。上記「カルボキシ保護基」、「ヒドロキシ保護基」および「アミノ保護基」の語は、ペプチド合成において用いられるこれらの語と同じ意味を有する。

【0016】アミノアルキルシランとしては $\omega$ -アミノアルキルアルコキシシランまたは $\omega$ -アミノアルキルハロゲノシランが好ましく、例えば $\omega$ -アミノプロビルトリエトキシシラン、 $\omega$ -アミノプロビルトリクロロシラン等を挙げることができる。上記の製造法において、無機担体の表面にオルガノシランを導入する反応は、ヒドロキシ基を有する化合物のシリル化に頻用される常法にしたがって行うことができる。この反応は、一般に有機溶媒中、比較的緩和な温度で行われる。いずれかのカルボン酸またはそのカルボキシ基における反応性誘導体と、アミノアルキルシリル基を導入した無機担体またはアミノ酸部分を結合した上記担体との反応は、例えばペプチド合成において頻用されるアミド結合形成反応の常法にしたがって行うことができる。反応性誘導体としては、酸ハライド、酸無水物(例えばアルキル炭酸混合酸無機物)、活性エステルまたは活性アミド(例えばイミダゾリド)が用いられる、酸自体を用いる場合には、反応を縮合剤の存在下に行うのが有利である。縮合剤として

は、カルボジイミド類、カルボニルジイミダゾール類、ウッドワード試薬、N-アルコキシカルボニル-2-アルコキシ-1,2-ジヒドロキノリン等が用いられる。反応条件は反応させる化合物の組み合わせによって異なり、有機溶媒または水性溶媒中、冷却ないしは室温または加温下、適宜第3級有機アミンのような塩基を存在させて行う。保護基の脱離は常法によって行う。

【0017】本発明によって得られる充填剤は、常法に従ってクロマトグラフ用のカラムに充填し、液体クロマトグラフィーによる光学異性体混合物の光学分割の固定相として使用することができる。すなわち、適当な直径と長さを有するガラス、ステンレス、チタン等のカラムに充填し、入口側から光学異性体の混合物を含む溶液を逆入し、適当な溶媒と溶媒条件、特に通常よく用いられる順相分配または逆相分配の条件を用いて展開、分画することにより、種々の光学異性体混合物の分離、分析を行なうことができる。

#### 【0018】

【発明の効果】この発明の化合物(I)は、光学異性体に対する相互作用の差が著しいので、この性質をキラリティ識別作用として利用することができる。それ故、この発明の充填剤は、すぐれたキラリティ識別性を有する。したがって、この発明の充填剤は、種々の光学異性体混合物、例えば、種々のエステル、アルコール、カルボン酸、アミンおよびアミノアルコール類並びにそれらの誘導体の光学異性体混合物をクロマトグラフィー方式で分離できる。これは、充填剤として、最も広い対象をもつ部類に入る。特に、光学異性体を分離するためのキラル認識作用として、固定相のキラル部位とサンプル間の種々の相互作用が存在するが、從来、正相系で効果を発揮する水素結合相互作用と逆相系(水系)で効果を発揮する配位子交換相互作用を併せ持つ固定相は見当たらず、本願固定相はそれを併せ持っている点で優れている、即ち、正相系でアミン、カルボン酸、アルコールの光学異性体を分離することができ、逆相系(水系)で、アミノ酸やオキシ酸の光学異性体を直接分離することができるため、きわめて広範囲の化合物の光学分割が可能である。使用できる溶離液の種類は、既存の固定相の中で最も広い部類に入る(高い濃度の酸や塩基以外が殆ど制限がない)ため、分割を成功させるための移動相の修飾が種々の広範囲に試みることが可能である。

【0019】しかも、この発明の充填剤は製造工程が少ないため製造が容易であり、基礎をなす化合物が化学的に安定であるから耐久性にも優れているという利点を有する。また、カラムとして高い理論段数が得られ、品質のばらつきが少ない。以下、本発明を実施例により説明するが、この実施例は本発明を限定するものではない。

#### 【0020】

##### 【実施例】

実施例1：シリカゲル(平均粒径5μm、平均孔径120

Å、表面積330m<sup>2</sup>/g)200gを減圧下120℃で2時間乾燥した後、3-アミノプロビルトリエトキシラン200gを1lの脱水テトラヒドロフランに溶かした液に加え、3時間過熱還流した。静置し、十分にゲルを沈降させ、上澄を傾捨した。これにメタノールを加えて攪拌し、同様に上澄を傾捨した。さらに、残留物をテトラヒドロフラン、クロロホルム・メタノール混液、クロロホルム、ヘキサン各500mlで洗浄し、乾燥して、3-アミノプロビルシリル化シリカゲル(以下APSと略す)を得た。このものの元素分析値は、N：1.32%、C：4.78%であり、これは、このものの1gに対し、3-アミノプロビルシリル基が約0.94ミリモルグラフトされたことに相当する。

【0021】次に、t-ブトキシカルボニル-L-バリン8.2gを脱水テトラヒドロフラン180mlに溶かした液を氷冷し、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EDQ)10.8gを加えてさらに1時間氷冷攪拌した後、上記のAPS15gを加え懸濁させ室温で1夜攪拌した。反応物を濾過し、残留物をクロロホルム・メタノール混液、メタノール、クロロホルム、ヘキサン各180mlで2回ずつ洗浄し、乾燥し、t-ブトキシカルボニル-L-バリルアミノプロビルシリル基をグラフトしたシリカゲル16.1gを得た。このものの元素分析値は、N：1.92%、C：11.0%であった。統いて、このゲル16.0gを50%トリフルオロ酢酸ジクロロメタン溶液180mlに加えて懸濁させ、室温で1時間攪拌した。反応物を濾過し、残留物をジクロロメタン180mlで洗浄した後、アンモニアジクロロメタン溶液中で20分間攪拌した。反応物を濾過し、残留物をメタノール、ジクロロメタン、ヘキサン各180mlで2回ずつ洗浄し乾燥した。上記のゲルより、t-ブトキシカルボニル基を脱離させたグラフトシリカゲル14.9gを得た。このものの元素分析値はN：2.03%、C：7.97%であった。

【0022】さらに、このゲル10.6gをジアセチル-L-酒石酸無水物11.5gを溶かした脱水テトラヒドロフランに加えて懸濁し、4時間半加熱還流した。放冷後、反応物を濾過し、残留物をメタノール、クロロホルム、ヘキサン各100mlで2回ずつ洗浄し、乾燥して、ジアセチル-L-酒石酸と同一の立体配置をもつ3-カルボキシ-2,3-ジアセトキシプロピオニル-L-バリルアミノプロビルシリル基をグラフトしたシリカゲル11.6gを得た。このものの元素分析値は、N：1.83%、C：12.4%であった。

【0023】ここで、APSおよびバリンの残留アミノ基をふさぐため、無水酢酸2.4gを溶かした脱水テトラヒドロフラン100mlに上記のゲル11.5gを加えて3時間加熱還流させた。反応物を濾過し、残留物をメタノール、クロロホルム、ヘキサン各100mlで2回ずつ洗浄し、乾燥し、11.1gのゲルを得た。このもの

の元素分析値は、N : 1.72 %, C : 12.2 %であった。

【0024】最後に、このゲル 6.0 g を 5 % のアセトニトリルを含む pH 3.0 の過塩素酸水溶液 3.0 ml に加えて懸濁し、8 時間加熱還流した。放冷静置し、ゲルを十分沈降させ、上澄を傾析し、メタノール 1.5 ml を加えて攪拌した。静置後、同様に上澄を傾析し、残留物をクレブホルム、ヘキサン各 1.5 ml で 2 回ずつ洗浄し、乾燥し、L-酒石酸と同一の立体配位をもつ 3-カルボキシ-2,3-ジヒドロキシプロピオニル-L-パリルアミノプロピルシリル基をグラフトした目的の充填剤を 5.0 g 得た。このものの元素分析値は N : 1.37 %, C : 7.55 % であった。これは、このものの 1 g に対し、L-酒石酸-L-バリンが約 0.49 ミリモルグ

ラフトされたことを示す。このようにして得られた充填剤を内径 4 mm、長さ 2.5 cm のステンレス製カラムにスライリー充填した。以上のように調整したカラムを用いて、有機溶媒系(正相系)と鋼イオン水溶液系(配位子交換系)の 2 種類の異なる性質の溶離液に走り、各種化合物のラセミ体を分離した。有機系の結果の一例を第 1 表に、鋼系の結果の一例を第 2 表に示す。

温度：室温

溶離液：第 1 表および第 2 表に示す。

溶離液流量：1.0 ml / 分

検出器：紫外線吸収計(波長 254 nm または 230 nm)

【表 1】

化 合 物	溶 離 液	保 持 係 数		分離係数 $\alpha$
		$K_1'$	$K_2'$	
アルコール				
ビナフトール	A	5. 79	6. 70	1. 158
ウニコナゾール	A	14. 13	14. 72	1. 042
ジニコナゾール	A	9. 87	10. 46	1. 050
アミノ酸誘導体				
N-Ac <sup>*2</sup> -バリン-OEt <sup>*3</sup>	A	7. 61	8. 30	1. 091
N-DNB <sup>*4</sup> -バリン-OMe <sup>*5</sup>	A	3. 98	4. 14	1. 040
N-Ac-71ニルアラニン-OMe	A	9. 93	10. 40	1. 047
N-Ac-フェニルグリシン-OMe	A	10. 98	11. 39	1. 037
N-DNB-フェニルグリシン	B	10. 47	11. 07	1. 057
その他				
りん酸水素1,1'- ビナフチル-2,2'- ジイル	A	5. 72	6. 61	1. 156

<sup>\*1</sup>

A : ヘキサン / 1,2-ジクロロエタン / エタノール (100:20:1)

B : ヘキサン / 1,2-ジクロロエタン / エタノール (50:15:1)

<sup>\*2</sup> N-アセチル<sup>\*3</sup> エチルエステル<sup>\*4</sup> N-3,5-ジニトロベンゾイル<sup>\*5</sup> メチルエステル

【表2】

化 合 物	溶離液 * 1	保持係数		分離係数 $\alpha$
		$K_1'$	$K_2'$	
アミノ酸				
バリン	a	1.83	1.96	1.075
バクロフェン	a	2.72	3.10	1.140
オキシ酸				
グリセリン酸	a	2.81	2.54	1.100

\* 1

a : 1 mM 硫酸銅水溶液

この表において、保持係数 ( $K_1'$  および  $K_2'$ ) および分離係数 ( $\alpha$ ) は次式により計算される。

\*

$$K_1' = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \quad , \quad K_2' = \frac{t_2 - t_0}{t_0}$$

$$\alpha = \frac{K_2'}{K_1'}$$

t<sub>1</sub> : より弱く吸着される鏡像体の保持時間t<sub>2</sub> : より強く吸着される鏡像体の保持時間t<sub>0</sub> : カラムの死容積に相当する保持時間

分離係数は、 $\alpha = 1$  の場合、全く光学分割能がないことを示し、1との差が大きくなるにしたがって光学分割能が高くなることを示す。

30

【0025】実施例2：実施例1においてt-ブトキカルボニル-L-バリンの代わりにt-ブトキカルボニル-D-フェニルグリシンを用い、同様に操作して、ジアセチル-L-酒石酸と同一の立体配置をもつ3-カルボキシー-2,3-ジアセトキシプロピオニル-D-フェニルグリシンアミノプロピルシリル基をグラフトしたシリカゲルを得た。これを20%トリフルオロ酢酸クロロホルムに加え、懸濁させ、室温で3時間攪拌した。反応物を濾過し、残留物をクロロホルム、メタノール、クロロホルム、ヘキサンで2回ずつ洗浄した。乾燥して、L-酒石酸と同一の立体配置をもつ3-カルボキシー-2,3-ジヒドロキシプロピオニル-D-フェニルグ

シルアミノプロピルシリル基をグラフトした目的の充填剤を得た。このものの元素分析値は、N: 1.43%, C: 10.5%であり、これは、このものの1gに対し、L-酒石酸-D-フェニルグリシンが約0.51ミリモルグラフトされたことを示す。このようにして得られた充填剤を内径4mm、長さ25cmのステンレス製カラムにスラリー充填した。以上のように調整したカラムを用いて、有機溶媒系(正相系)と銅イオン系(配位子交換系)の2種の異なる性質の溶離液により、各種化合物のラセミ体を分割した。有機系の結果の一例を第3表に、銅系の結果の一例を第4表に示す。

温度：室温

溶離液：第3表および第4表

溶離液流量：1.0ml/分

40 検出器：紫外線吸収計(波長254nmまたは230nm)

【表3】

化 合 物	溶離液 * 1	保持係数		分離係数 $\alpha$
		$K_1'$	$k_2'$	
アルコール				
ビナフトール	A	4. 78	5. 12	1. 071
ジエコナゾール	A	7. 30	7. 60	1. 040
アミノ酸誘導体				
N-DNB <sup>*2</sup> -バリン-OMe <sup>*3</sup>	B	2. 22	2. 47	1. 111

\*1

A : ヘキサン / 1,2-ジクロロエタン / エタノール (100:20:1)  
B : ヘキサン / 1,2-ジクロロエタン / エタノール (50:15:1)

\*2 N-8,6-ジエトロベンゾイル

\*3 メチルエステル

【表4】

化 合 物	溶離液 * 1	保持係数		分離係数 $\alpha$
		$K_1'$	$k_2'$	
アミノ酸				
フェニルグリシン	a	3. 33	3. 55	1. 066
ナフチルグリシン	a	11. 07	12. 26	1. 108
オキシ酸				
マンデル酸	a	2. 95	4. 08	1. 382
グリセリン酸	a	3. 35	4. 24	1. 267

\*1

a : 1 mM 硫酸銅水溶液

【0026】実施例3：アセトニトリル90mLにN-[N'-(R-1-( $\alpha$ -ナフチル)エチルカルバモイル]スクシニイミデイト9.4gを溶かし、これにN<sup>6</sup>-t-ブトキシカルボニル-L-リジン7.4gとトリエチル

17

アミン3.0gの水溶液45mlを加えて、1時間加熱還流した。放冷後、漏過して残渣を除き、水45.0mlを加えて希釈し、クエン酸で酸性化してクロロホルムで抽出した。溶液を脱水し、濃縮して、N<sup>6</sup>-R-1-(α-ナフチル)エチルカルバモイル-N<sup>6</sup>-t-ブトキシカルボニル-L-リジン1.8gを得た。

【0027】実施例2において、t-ブトキシカルボニル-D-フェニルグリシンの代わりに上記合成の化合物を用い、同様にしてL-酒石酸と共に立体配置をもつN<sup>6</sup>-(3-カルボキシ-2,3-ジヒドロキシプロピオニル)-N<sup>6</sup>-[R-1-(α-ナフチル)エチルカルバモイル]-L-リジルアミノプロピルシリル基をグラフトした目的の充填剤を得た。このものの元素分析値は、N:1.82%、C:10.9%であり、これは、このものの1gに対し、N<sup>6</sup>-(L-酒石酸)-N<sup>6</sup>-[R-1-(α-ナフ

18

チル)エチルカルバモイル]-L-リジンが約0.33ミリモルグラフトされたことを示す。このようにして得られた充填剤を内径4mm、長さ2.5cmのステンレス製カラムにスライド充填した。以上のように調整したカラムを用いて、有機溶媒系(正相系)と鋼イオン水溶液系(配位子交換系)の2種の異なる性質の溶離液により、各種化合物のラセミ体を分離した。有機系の結果の一例を第5表に、鋼系の結果の一例を第6表に示す。

温度：室温

溶離液：第5表および第6表に示す。

溶離液流量：1.0ml/分

検出器：紫外線吸収計(波長254nmまたは230nm)

【表5】

化 合 物	溶離液 *1	保持係数		分離係数 $\alpha$
		K <sub>1</sub> '	K <sub>2</sub> '	
アルコール				
バントラクトン	A	7.27	7.53	1.036
アレスロロン	A	12.54	12.99	1.035
プロバルジルロン	A	19.79	20.40	1.031
アミノ酸誘導体				
N-DNB-アラニン-OMe <sup>*2</sup>	B	4.25	5.53	1.301
N-DNB-バリン-OMe	B	2.24	2.95	1.318
N-DNB-フェニルグリシン-OMe	B	4.15	4.58	1.107
アミン誘導体				
N-DNB-1-フェニルエチルアミン	B	4.48	6.13	1.368

\*1

A:ヘキサン/1,2-ジクロロエタン/エタノール(100:20:1)

B:ヘキサン/1,2-ジクロロエタン/エタノール(20:4:1)

\*2 N-3,5-ジニトロベンゾイル

\*3 メチルエステル

【表6】

化 合 物	溶離液 * 1	保持係数		分離係数 $\alpha$
		$K_1'$	$K_2'$	
アミノ酸	.			
バリン	a	1. 32	1. 54	1. 165
t-ロイシン	a	1. 64	2. 14	1. 308
フェニルグリシン	a	2. 08	2. 38	1. 155
ナフチルグリシン	a	8. 91	13. 10	1. 469

\* 1

a : 1 mM 硫酸銅水溶液

## 【図面の簡単な説明】

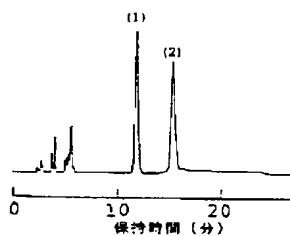
【図1】 N-3, 5-ジニトロベンゾイル-(R, S)-1-フェニルエチルアミンを本発明の分離剤を用いて分割した場合の溶離曲線を示すグラフである。

【図2】 D, L-ナフチルグリシンを本発明の分離剤を用いて分割した場合の溶離曲線を示すグラフである。

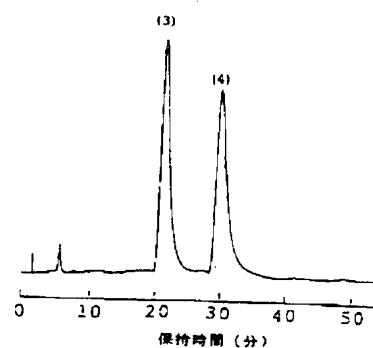
## 【符号の説明】

1…N-3, 5-ジニトロベンゾイル-(S)-1-フェニルエチルアミンのピーク。  
 2…N-3, 5-ジニトロベンゾイル-(R)-1-フェニルエチルアミンのピーク。  
 3…D-ナフチルグリシンのピーク。  
 4…L-ナフチルグリシンのピーク。

【図1】



【図2】



## フロントページの続き

(72)発明者 松下 雄弘

大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番  
135号 株式会社住化分析センター内

(72)発明者 木須 直子

大阪府大阪市此花区春日出中3丁目1番  
135号 株式会社住化分析センター内